

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2002 年 4 月 11 日 (11.04.2002)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 02/28198 A1

- (51) 国際特許分類⁷: A23J 3/16
- (21) 国際出願番号: PCT/JP01/08534
- (22) 国際出願日: 2001 年 9 月 28 日 (28.09.2001)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願2000-301544 2000 年 10 月 2 日 (02.10.2000) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 不二製油株式会社 (FUJIOIL COMPANY, LIMITED) [JP/JP]; 〒542-0086 大阪府大阪市中央区西心斎橋2丁目1番5号 Osaka (JP).
- (81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.
- (84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR).
- 添付公開書類:
— 国際調査報告書
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 石川正広 (ISHIKAWA, Masahiro) [JP/JP]. 河野光登 (KOHNO, Mitsutaka) [JP/JP]. 長尾恭江 (NAGAO, Yasue) [JP/JP].
- 2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: FRACTIONATED SOYBEAN PROTEIN AND PROCESS FOR PRODUCING THE SAME

(54) 発明の名称: 分画された大豆蛋白およびその製造法

(57) Abstract: A process for efficiently and industrially fractionating soybean into highly pure 7S globulin and 11S globulin which comprises heating a solution containing soybean protein under a slightly acidic condition and then fractionating it into a soluble fraction and an insoluble fraction at pH 5.6 to 6.6. If necessary, a treatment with phytase is further carried out for the fractionation into 7S globulin and 11S globulin.

(57) 要約:

大豆蛋白を効率よく、且つ工業的に高純度の 7S グロブリンと 11S グロブリンに分画する方法を提供するもので、大豆蛋白を含む溶液を微酸性下で加温した後、pH5.6 ~6.6 において可溶性画分と不溶性画分に分画する。また、必要に応じてフィターゼ処理を併用することにより、7S グロブリンと 11S グロブリンに分画する製造法である。

WO 02/28198 A1

明 細 書

分画された大豆蛋白およびその製造法

6 技術分野

本発明は、大豆蛋白を含む溶液から 7S グロブリンに富んだ画分と 11S グロブリンに富んだ画分を製造する方法に関する。

背景技術

- 10 大豆の貯蔵蛋白は、pH4.5 付近で沈澱し、比較的簡単に蛋白以外の成分と蛋白成分に分けることができる。この貯蔵蛋白は、大豆分離蛋白といわれ、食品工業における利用は多くこの形でなされる。蛋白はまた超遠心分析による沈降定数から、2S、7S、11S、15S の各グロブリンに分類される。このうち、7S グロブリンと 11S グロブリンはグロブリン画分の主要な構成蛋白成分（注：7S グロブリン、11S グロブリンは沈降法による分類名であり、免疫学的命名法にいう β -コングリシニン、グリシニンに実質的に相当する。）であり、この両者は粘性・凝固性・界面活性等において異なる性質を有する。したがって、大豆蛋白質を 7S グロブリンに富んだ区分と 11S グロブリンに富んだ区分に分画することにより両蛋白の性質を利用することが可能となり、産業における蛋白利用分野の拡大が期待できる。

- 25 7S グロブリン、11S グロブリンは幾つかのサブユニットからなり、7S グロブリンは α 、 α' 、 β の 3 種類のサブユニット、11S グロブリンは酸性ポリペプチド(A)と塩基性ポリペプチド(B)を一对とした数種のサブユニットからなっている。その存在比率は、典型的には SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動で得られたパターンの

デンシトメトリーによる面積比で 7S グロブリン : 11S グロブリンが略 1 : 2 である。7S グロブリンと 11S グロブリンの性質は、分子量も荷電の状態もよく似ている。特に、両グロブリンはサブユニットの組み合わせにより多様性を持つ蛋白で、これらの性質はある程度幅があり、相互にオーバーラップしている。したがって、両者の相互の混入がない有効な分離をするのは、容易でない。

従来から知られている分画法を以下に示す。すなわち、等電点の違いを利用するもの：抽出 pH を 11S グロブリンの等電点近傍で行い、7S グロブリンのみを抽出させる方法（特開昭 55-124457 号公報）。カルシウムとの反応性の違いを利用するもの：抽出時に少量のカルシウム塩を添加、7S グロブリンに富む画分を抽出させる方法（特開昭 48-56843 号公報）。pH・イオン強度での溶解性の違いを利用する方法：pH1.2 ~ 4.0 の塩化ナトリウムまたは塩化カリウム存在下で不溶性区分を除去して 7S グロブリンを製造する方法（特開昭 49-31843 号公報）、等電点沈澱したスラリーを pH5.0 ~ 5.6 に調整し、かつ塩化ナトリウム濃度を 0.01~0.2M のモル濃度に調整して、7S、11S 画分を分離する方法（特開昭 58-36345 号公報）。冷沈現象と還元剤等を利用するもの：11S グロブリンが低温下では溶解性が低下する現象（冷沈現象とよぶ）を利用したもので、大豆蛋白原料を亜硫酸化合物、グルタチオン化合物、またはシステイン化合物の存在下、かつ pH6.5 以上の水系下処理し、pH5.5 ~ 7.0 かつ 20℃以下の範囲に調整して 7S グロブリンに富んだ可溶性画分と 11S グロブリンに富んだ不溶性画分に分画する方法（特開昭 61-187755 号公報）。

これら従来から知られている分画方法は、7S グロブリンと 11S グロブリンの pH、イオン強度、ある種の塩の存在、温度等による溶解

性の違いをたくみに利用した技術であるが、ある程度明確な分画を示しても実験室的方法の域を免れず、工業的な分画法としては不適當であるという問題点があり、実用面で問題を残していた。例えば、特開昭 61-187755 号公報の方法では、冷沈現象は温度に強く依存するため 5℃程度まで冷却する必要がある、工業的な低い遠心力で分離するには大量の亜硫酸化合物など添加を要するという実用面での問題と、可溶性画分への 11S グロブリンの混入が少なからずあるという分画精度面での問題を残していた。

7S グロブリンに富む蛋白を得るということでは、育種による 11S グロブリン欠損大豆、すなわち 7S グロブリンに富んだ種子 (Breeding Science, 46, 11, 1996) から蛋白を分離することが検討され、それを応用した報告 (Breeding Science, 50, 101, 2000) や特許 (US 6,171,640 B1) も出されている。

以上のように、可溶性および不溶性各画分への相互の混入率が少なく、かつ簡便に効率よく工業規模での製造が行える 7S グロブリンに富んだ画分と 11S グロブリンに富んだ画分の分画法の開発研究が行われている。

一方、大豆由来の蛋白には、細胞膜をはじめプロテインボディー・オイルボディー等の膜を構成する極性脂質との親和力の高い蛋白質 (脂質会合蛋白質) が存在し、工業的に生産する分離大豆蛋白の約 35% をも占めていることが佐本らにより報告されている (Biosci. Biotechnol. Biochem., 62 (5), 935-940 (1998))。この脂質会合蛋白質は膜蛋白質を主体とする蛋白群の総称で、特に SDS-ポリアクリルアミド電気泳動による推定分子量において主に 34 kDa、24 kDa、18 kDa を示す蛋白質を含み、クロロホルム：エタノール = 2 : 1 の極性溶媒により抽出される極性脂質を 10 ~ 12 重

量%程度含有する。

従来の分画法は 7S と 11S のみに注目しており、各画分に混在する脂質会合蛋白質については考慮されていない場合が多かった。その理由として、脂質会合蛋白質は SDS-ポリアクリルアミド電気泳動による分析では 7S や 11S ほど明確に特定することができず、その存在を過少に評価する場合が多かった。言い換えれば、SDS-ポリアクリルアミド電気泳動により測定される純度だけでは、真の純度を過大に評価している場合が多く、真に純度の高い 7S や 11S を得るには、この脂質会合蛋白質の挙動を考慮する必要がある。つまり、これまでの 7S/11S の 2 画分への分画では、7S と 11S の比率によってのみ分画品の純度を議論している場合が多かった。しかし各画分には脂質会合蛋白質を随伴し、実際の蛋白質組成としては脂質会合蛋白質を多く含む精製純度のやや低い粗分画品となっている場合が多かった。

本発明の目的の一つは、7S グロブリンと 11S グロブリンの新規な分画法を提案するものであり、特に工業的規模で行え、高精度で効率のよい分画法を目的とする。また他の目的は、脂質会合蛋白質の混入率が少なく、純度の高い 7S グロブリンと 11S グロブリンの、特徴ある性質を有する蛋白画分を得ることにある。

発明の開示

本発明は、大豆蛋白を含む溶液を微酸性下で加温した後、pH5.6～6.6 において可溶性画分と、不溶性画分に分画することを特徴とする分画大豆蛋白の製造法である。上記微酸性は pH3.8～6.8 が好ましく、加温する温度は 30～75℃が好ましい。これにより 7S グロブリンに富み脂質会合蛋白質の少ない可溶性画分を得ることができ

る。またこれにより 11S グロブリンおよび脂質会合蛋白質に富んだ不溶性画分が生成するが、この不溶性の画分の 11S グロブリンを略中性の水溶液中で抽出することにより、脂質会合蛋白質を不溶化させたまま 11S グロブリンのみを溶解させ分離することが可能で、
5 11S グロブリンに富み脂質会合蛋白質の少ない画分を得ることができる。

また、本発明は製造工程中、フィターゼによるフィチン酸分解を施すことにより、分離工程での分離精度を向上させるとともに、低
10 フィチン酸の、高純度 7S グロブリン大豆蛋白や高純度 11S グロブリン大豆蛋白を得ることができる。

上記製造法によって得られた可溶性画分は 7S グロブリン / (11S グロブリン + 7S グロブリン) の比が 0.4 以上であり、条件を適当に選択することによって当該比が 0.8 以上、0.85 以上、或いは 0.9 以上の高純度蛋白を容易に得ることができる。また該可溶性画分は
15 11S グロブリンや 7S グロブリン以外の蛋白の少ない、特に脂質会合蛋白質が 10 % / 全蛋白固形分以下の大豆蛋白であり、より正確な意味での高純度 7S グロブリンを得ることができる。もう一つの画分である不溶性画分は、11S グロブリン / (11S グロブリン + 7S グロブリン) の比が 0.7 以上の画分であり、条件を適当に選択することによって当該比が 0.8 以上、0.85 以上、或いは 0.9 以上の高純
20 度蛋白を容易に得ることができる。

ここに、7S グロブリンや 11S グロブリンの相対量は、(後述の補正純度の場合を除いて) SDS-ポリアクリルアミド電気泳動で得られた泳動パターンをデンスitomーターで測定し、該当画分の面積比
25 率で表わす。

また、上記脂質会合蛋白質は、ほとんど変性していない酸沈澱グ

ロブリンから硫酸ナトリウムを用いて精密に得ると酸沈澱グロブリン中に30～35%程度存在し（前記 Biosci.Biotechnol.Biochem., 62 (5), 935-940 (1998)）、またクロロホルム／メタノール＝2：1（容量比）で抽出される極性脂質が、該酸沈澱グロブリン固形物中には、3～4重量%が存在し、他方脂質会合蛋白質中には10～12%存在する事実から、上記極性脂質（以下「クロメタ油分」と略すことがある）は酸沈澱グロブリンの中でも脂質会合蛋白質中に偏在し、クロメタ油分の10重量倍が脂質会合蛋白質であると換算できる。ただしこの換算は脂質会合蛋白質がヘキサンなどによる脱脂の工程を経ている対象に適用でき、ヘキサン抽出の工程を経ていない対象である場合にはヘキサンで予め脱脂した後に適用できる。7Sグロブリンに富む上記可溶性画分は、本発明によればクロメタ油分は1%以下であり、換算すると脂質会合蛋白質は10%以下である。

もう一方の不溶性画分は11Sグロブリン／（11Sグロブリン＋7Sグロブリン）の比が0.7以上であり、この不溶性の画分の11Sグロブリンは、略中性（pH6.5～8.5）の水溶液中で抽出することにより、脂質会合蛋白質を不溶化させたまま11Sグロブリンのみを溶解させ分離することが可能で、11Sグロブリンに富み（11Sグロブリン／（11Sグロブリン＋7Sグロブリン）の比が0.7以上）、脂質会合蛋白質の少ない画分は、脂質会合蛋白質が20%／全蛋白以下、すなわちクロロホルム：メタノール＝2：1で抽出される極性脂質が2%以下の大豆蛋白画分となる。

さらに、これらの両画分はフィターゼによるフィチン酸分解により、得られる蛋白当たり1.2%以下の低フィチンの蛋白画分を得ることができる。分画効率を上げるためのフィターゼの処理時期は分画前のいずれかの工程で行うのがよい。

図面の簡単な説明

第1図は、pH4.8 / 60℃加温処理により得られる可溶性画分および不溶性画分の SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動パターンである。

第2図は、可溶性画分から得た 7S グロブリンに富む蛋白の溶解特性を示す図である。

第3図は、不溶性画分から得た 11S グロブリンに富む画分の溶解特性を示す図である。

10

発明を実施するための最良の形態

本発明に用いた分析方法を以下に記載する。

*粗蛋白質；ケールダール法に基づき窒素含量を求め、係数6.25をかけて粗蛋白質に換算した。

15 *SDS-ポリアクリルアミド電気泳動；Laemmli (Nature, 227, 680 (1970)) の方法に基づきゲル濃度10-20%のグラディエントゲルで分析した。アプライ量は10 μ gとした。

*フィチン酸；Alii Mohamed の方法 (Cereal Chemistry 63, 475-478.1986) に準拠して測定した。

20 *クロメタ油分；試料乾物に対してクロロホルム・メタノールの混合液（容量比、2：1）を約50倍加え、還流抽出される固形分の重量比をクロメタ油分として測定した。

*純度（SPE 基準）；上記の SDS-ポリアクリルアミド電気泳動で得られた泳動パターンをデンスitomーターで測定し、その全体に対する該当画分の面積比率を純度（SPE 基準）とした。ここに 7S グロブリン含量は α 、 α' 、 β サブユニットの総量を指し、11S グロ

25

ブリン含量は酸性ポリペプチド(A)と塩基性ポリペプチド(B)の総量を指す。

*補正純度；上記で得られた純度（SPE 基準）から、混在する脂質会合蛋白質の量も考慮した補正純度を以下のように算出した。すな
5 わち試料の純度（SPE 基準）の値をA%として、当該試料中には7S
グロブリン及び11S グロブリン以外にクロメタ油分の10重量倍に
相当する脂質会合蛋白質も存在するので、7S グロブリン及び11S
グロブリンに脂質会合蛋白質の量を含めた合計蛋白に対する純度と
して算出する。

10
$$\text{補正純度(\%)} = (100(\%) - \text{クロメタ油分(\%)} * 10) * A(\%) / 100$$

以下に本発明の好ましい態様を記載する。

本品に用いる原料大豆は市販の大豆または育種や遺伝子操作など
により、特定の画分が欠損した大豆のいずれも用いることが可能で
ある。

15 また大豆蛋白を含む溶液は、大豆の加水スラリー若しくは同スラ
リーから得られる豆乳であってもよいが、脱脂大豆の加水スラリー、
同スラリーから得られる脱脂豆乳、酸沈澱大豆蛋白スラリーまたは
分離大豆蛋白溶液がより好ましい。

本発明の実施に際して、7S グロブリンに富んだ画分と11S グロ
20 ブリンに富んだ画分に分画するためには、未変性もしくは低変性大
豆蛋白溶液が好ましい。大豆蛋白溶液をpH3.8～6.8、好ましくは
pH4.0～6.6、より好ましくはpH4.2～6.2の微酸性下で30～75℃、
好ましくは35～65℃、さらに好ましくは40～60℃の加温処理した
後、pH5.6～6.6、好ましくはpH5.6～6.4に調整すれば7S グロ
25 ブリンに富んだ可溶性画分と11S グロブリンに富んだ不溶性画分
の分離が容易になる。また、製造工程中、特に可溶性画分と不溶性

画分を分画するまでのいずれかの工程で、大豆蛋白と共存するフィチン酸をフィターゼで分解することにより、7S グロブリンに富んだ画分と 11S グロブリンに富んだ画分の分離が一層容易になる。フィターゼは加温処理と同時にを行うと簡便である。フィターゼは、起源により多少異なるものの、通常 pH 3.5 - 9.0、温度 20 ~ 70℃、5 分間 ~ 3 時間、蛋白重量 (g) あたり 0.1 ~ 100 unit 程度作用させるのが適している。なお 1 unit のフィターゼ活性は pH 5.5、37℃の下で反応初期の 1 分間にフィチン酸から 1 μモルのリン酸を遊離する酵素量を表わす。

10 上記加温処理のための加温保持時間の長短、還元剤添加の有無は、加温処理の pH や温度に比べて分離の難易にあまり大きく影響せずあまり重要ではない。加温処理時の pH が 3.8 ~ 6.8 の範囲外、または温度が 30℃ ~ 75℃の範囲外であると、7S グロブリンと 11S グロブリンの分離が難しくなる。また、分離時の pH が 5.6 未満では
15 不溶性画分への 7S グロブリンの混入が多くなり、逆に pH が 6.6 を越えると可溶性画分への 11S グロブリンの混入が多くなり好ましくない。

加温処理後、微生物管理上冷却する方が好ましいが、そのままの温度で分画に移ってもよい。分画の手段は、公知の分離手段（ろ別、
20 遠心分離等）を用いることができ、特に連続式遠心分離機（例えばデカンター）等を用いても容易に分離することができる。むしろバッチ式等の非連続式遠心分離機の使用を妨げるものではない。

本発明による可溶性画分である 7S グロブリンに富んだ画分と不溶性画分である 11S グロブリンに富んだ画分の分画状態は、SDS-
25 ポリアクリルアミドゲル電気泳動で得られたパターンで評価できる（純度（SPE 基準））。

しかし、SPE 基準の純度では、脂質会合蛋白質が SDS-ポリアク
リルアミド電気泳動での染色性が低いために過少に評価されるので、
前記補正純度(%)=(100(%)−クロメタ油分(%)×10)×A(%) / 100 の式
を用いた純度補正の値の方が、より真の純度に近い値と考えられる。

- 5 分離後の可溶性画分は、このまま、あるいは濃縮して、あるいは
中和して、あるいは殺菌して、あるいは乾燥して、7S グロブリンに
富んだ画分として用いることができる。濃縮する手段としては、可
溶性画分を等電点付近の pH (pH4.5 ~5.3、好ましくは pH4.7 ~
5.1) に移行させて生じる沈澱カードを分離回収する方法が例示さ
10 れ、その後中和、加熱殺菌処理し、乾燥する形態が最も通常である。
加熱殺菌処理は公知の HTST、UHT 処理等で行うことができる。
目的に応じて、溶液状態でプロテアーゼ等を用いた酵素処理をする
ことももちろん可能である。

- また分離後の不溶性画分からは、略中性（概ね pH 6.5 ~ 8.
15 5）の水溶液を用いて 11S グロブリン成分を抽出し、不溶性の脂
質会合蛋白質と（不溶性画分がおから成分を含む場合はおから成分
とも）分離することができる。この際、約 4000 G 以上の、好ま
しくは約 5000 G 以上の高 G 遠心分離にかけるのが、11S グロブ
リンと脂質会合蛋白質との分離に好適であり、11S グロブリン/
20 (11S グロブリン+7S グロブリン) の比が 0.7 以上を維持したま
ま、クロメタ油分が固形物中 2% 以下に低下した蛋白を得ることが
できる。

- 得られた 11S グロブリンを含む液は、このまま、あるいは濃縮し
て、あるいは中和して、あるいは乾燥して、11S グロブリンに富ん
25 だ大豆蛋白として用いることができる。濃縮手段として、可溶性画
分を等電点沈澱 (pH4.5 ~5.8、好ましくは pH4.7 ~5.5) させて

沈澱カードを分離回収する方法は物性を向上する上で好ましく、また等電点沈澱の後中和、加熱殺菌処理し、あるいはさらにプロテアーゼ等を用いた酵素処理することもできる。殺菌、乾燥した形態が最も通常である。加熱殺菌処理は公知の HTST、UHT 処理等で行うことができる。

以下実施例により本発明の実施態様を具体的に説明する。ただし、本発明はこれらの実施例によってその技術範囲が限定されるものではない。

10 実施例

以下、この発明の実施例を示すが、本発明はこれらによってその技術範囲が限定されない。

実施例 1

大豆を圧扁し、*n*-ヘキサンを抽出溶媒として油を抽出分離除去して得られた低変性脱脂大豆（窒素可溶指数：NSI 91）1 重量部に、
15 10 重量部の抽出水を加え、室温、pH7.0 において 1 時間抽出後、遠心分離し、脱脂豆乳を得た。この脱脂豆乳を塩酸を用いて pH3.6～7.0 の範囲に調整し、非加熱または 80℃ 以下の範囲で加温を行った。pH 調整した脱脂豆乳が所定の温度に達した後、直ちに 30℃ 付近まで冷却し、pH5.8 に調整してバッチ式遠心分離機（3,000G）で 7S
20 グロブリンを含む可溶性画分と 11S グロブリンを含む不溶性画分を遠心分離した。なお、この遠心分離時の各溶液の温度は 25℃ 付近であった。上記 pH、加熱の範囲における豆乳の可溶性画分と不溶性画分の分離状態を観察した結果、pH3.8～6.8、好ましくは pH4.0～6.6、
25 さらに好ましくは pH4.2～6.2 の酸性下で、30℃ 以上、好ましくは 35℃ 以上、さらに好ましくは 40℃ 以上の加温処理を行うと可溶性画

分と不溶性画分は明確な分離をした。ただし、遠心分離後の可溶性画分と不溶性画分の蛋白組成を SDS-ポリアクリルアミド電気泳動により評価した結果、70℃で加温処理を行うと不溶性画分に 7S グロブリンが混入し始め、80℃以上の加温処理では略全ての 7S グロブリンが不溶性画分に含まれていることが認められ、7S グロブリンと 11S グロブリンを分画することができなかった。

これらの結果より、pH3.8~6.8、好ましくは pH4.0~6.6、さらに好ましくは pH4.2~6.2 の酸性下で、30~75℃、好ましくは 35~65℃、さらに好ましくは 40~60℃の加温処理をした後に、pH5.8 で遠心分離することにより、7S グロブリンを含む可溶性画分と 11S グロブリンを含む不溶性画分を簡便に分離できることがわかった。

第 1 図は、上記加温処理条件のうちで、pH4.8 における 60℃加温処理により得られた可溶性画分と不溶性画分の SDS-ポリアクリルアミド電気泳動パターンである。

上記分離後の可溶性画分と不溶性画分の、7S グロブリンと 11S グロブリンの存在比 (SDS-ポリアクリルアミド電気泳動法による泳動パターンをデンストメーターで測定した該当画分の面積比率)

(以下同じ) を表 1 に示した。

表 1 (pH4.8 において 60℃加温処理を行った場合)

	可溶性画分		不溶性画分	
	7S : 11S	95 : 5	7 : 93	

また、得られた可溶性画分および不溶性画分のクロメタ油分は各々固形分中 0.9%、3.2% で、不溶性画分への脂質会合蛋白

質の濃縮が確認された。

実施例 2

- 実施例 1 と同様に脱脂した低変性脱脂大豆 1 重量部に、10 重量部の抽出水を加え、室温～80℃、pH3.6～7.2 の範囲において 30 分間抽出し、スラリーを得た。この抽出スラリーを室温付近まで冷却した後、塩酸あるいは苛性ソーダを用いて pH5.8 に調整し、バッチ式遠心分離機 (3,000G) で 7S グロブリンを含む可溶性画分と 11S グロブリンを含む不溶性画分を遠心分離した。なお、遠心分離時の各溶液の温度は 25℃ 付近であった。上記抽出温度、pH の範囲におけるスラリーの可溶性画分と不溶性画分の分離状態を観察した結果、pH3.8～6.8、好ましくは pH4.0～6.6、さらに好ましくは pH4.2～6.2 の酸性下で、30℃ 以上、好ましくは 35℃ 以上、さらに好ましくは 40℃ 以上の加温処理を行うと可溶性画分と不溶性画分は明確な分離をした。ただし、遠心分離後の可溶性画分と不溶性画分の蛋白組成を SDS-ポリアクリルアミド電気泳動により確認した結果、70℃ で加温処理を行うと不溶性画分に 7S グロブリンが混入し始め、80℃ 以上の加温処理では略全ての 7S グロブリンが不溶性画分に含まれていることが認められ、7S グロブリンと 11S グロブリンを分画することができなかった。
- これらの結果より、pH3.8～6.8、好ましくは pH4.0～6.6、さらに好ましくは pH4.2～6.2 の酸性下で、30～75℃、好ましくは 35～65℃、さらに好ましくは 40～60℃ の抽出処理をした後に、pH5.8 で遠心分離することにより、7S グロブリンを含む可溶性画分と 11S グロブリンを含む不溶性画分を簡便に分離できることがわかった。
- pH5.3 で 40℃ の抽出処理の後に得られた可溶性画分と不溶性画分の 7S グロブリンと 11S グロブリンの存在比を実施例 1 の方法で算

出し、表 2 に示した。

表 2 (pH5.3 において 40℃抽出処理を行った場合)

	可溶性画分	不溶性画分
5	7S : 11S	9 6 : 4
		8 : 9 2

10 なお、得られた可溶性画分および不溶性画分のクロメタ油分は
各々固形分中 0. 8 %、3. 0 %で、不溶性画分への脂質会合蛋白質
の濃縮が確認された。

以上実施例 1 および実施例 2 の結果より、酸性下の加熱処理を経
ることで、大豆蛋白を含む溶液から 7S グロブリンを含んだ可溶性
画分と 11S グロブリンおよび脂質会合蛋白質を含んだ不溶性画分を、
工業的な低い遠心力で分離することが可能であることがわかった。

15 実施例 3

実施例 1 と同様に抽出した脱脂豆乳を、塩酸にて pH4.8 に調整し
た後、50℃になるように加温を行った。pH 調整した脱脂豆乳が 50℃
に達した直後、および 50℃に 60 分間保持した後、30℃付近まで冷
却し、苛性ソーダで pH5.8 に調整してバッチ式遠心分離機(3,000G)
20 で遠心分離した。このとき保持時間の違いによらず可溶性画分と不
溶性画分は明確な分離をした。なお、この遠心分離時の溶液温度は
25℃付近であった。

得られた可溶性画分と不溶性画分の 7S グロブリンと 11S グロブ
リンの存在比を実施例 1 の方法で算出し表 3、表 4 に示した。

表 3 (50℃保持時間なしの場合)

	可溶性画分	不溶性画分
5	7S : 11S 95 : 5	7 : 93

表 4 (50℃で 60 分間保持した場合)

	可溶性画分	不溶性画分
10	7S : 11S 93 : 7	8 : 92

これらの結果より、保持時間の違いによる 7S グロブリンと 11S グロブリンの相互の混入は認められず、酸性下での加温保持時間は特に制限されないことがわかった。

実施例 4

実施例 1 と同様に抽出した脱脂豆乳を、塩酸にて pH4.8 に調整した後、50℃になるように加温を行った。pH 調整した脱脂豆乳が 50℃に達した後、直にちに 30℃付近まで冷却し、苛性ソーダにて pH5.7 および pH6.0 に調整してバッチ式遠心分離機 (3,000G) で遠心分離した。このとき可溶性画分と不溶性画分は明確な分離をした。なお、この遠心分離時の溶液温度は 25℃付近であった。

得られた可溶性画分と不溶性画分の 7S グロブリンと 11S グロブリンの存在比を実施例 1 の方法で算出し、表 5 および表 6 に示した。

表 5 (pH5.7 で分離した場合)

	可溶性画分	不溶性画分
7S : 11S	9 2 : 8	8 : 9.2

5

表 6 (pH6.0 で分離した場合)

	可溶性画分	不溶性画分
7S : 11S	8 3 : 1 7	5 : 9.5

10

これらの結果より、遠心分離時の pH、すなわち、7S グロブリンを含んだ可溶性画分と 11S グロブリンを含んだ不溶性画分の分離の pH には、ある程度の幅があることがわかった。

15 実施例 5

実施例 1 と同様に抽出した脱脂豆乳を、塩酸にて pH4.8 に調整した後、50℃になるように加温を行った。pH 調整した脱脂豆乳が 50℃に達した後、直にちに 30℃付近まで冷却し、苛性ソーダにて pH5.8 に調整してバッチ式遠心分離機 (3,000G) で遠心分離した。このとき可溶性画分と不溶性画分は明確な分離をした。なお、この遠心分離時の溶液温度は 25℃付近であった。得られた不溶性画分は加水 (2 倍重量) し、苛性ソーダで pH 7.0 に中和した後、高 G の遠心分離 (5 0 0 0 G * 1 0 分) によりデファインをおこなって 11S グロブリンに富んだ上清を得た。一方、可溶性画分は塩酸にて pH4.9 に調整した後、遠心分離 (3 0 0 0 G * 5 分) してホエーを除き、沈澱カードを得た。沈澱カードは加水 (4 倍重量) し、苛性ソーダで

20

25

中和し 7S グロブリンに富んだ画分を得た。

各々の画分を 140℃ 15 秒間殺菌し、これを噴霧乾燥して、7S グロブリンおよび 11S グロブリンに富んだ 2 種類の粉末状分画大豆蛋白を得た。得られた 7S グロブリンと 11S グロブリンの成分組成を

5 表 7 に示した。

表 7

		7S グロブリン	11S グロブリン
10	水分	5.0 %	5.0 %
	粗蛋白質 (／乾物)	97.8 %	96.8 %
	純度 (SPE 基準)	94.8 %	92.2 %
	クロメタ油分	0.8 %	2.0 %
	フィチン酸	2.1 %	2.0 %
15	補正純度	87.2 %	73.8 %

以上の結果より、脱脂豆乳を原料として、純度が高く、クロメタ油分の少ない 7S、11S が得られることがわかった。

実施例 6

20 実施例 1 と同様に抽出した脱脂豆乳を、塩酸にて pH4.5 に調整した後、バッチ式遠心分離機 (2,000G) で遠心分離し、不溶性画分 (以下酸沈カードと言う) と可溶性画分 (ホエー) を分離した。酸沈カード (いわゆる分離大豆蛋白) に水を加え、十分に分散させた後、50℃になるように加温を行った。酸沈カード分散溶液が 50℃に達し

25 た後、直ちに 30℃付近まで冷却し、苛性ソーダで pH5.8 に調整してバッチ式遠心分離機 (3,000G) で遠心分離した。このとき可溶性画

分と不溶性画分は明確な分離をした。なお、この遠心分離時の溶液温度は 25℃ 付近であった。得られた不溶性画分は加水（2 倍重量）し、苛性ソーダで中和した。一方、可溶性画分は塩酸にて pH4.9 に調整した後、遠心分離してホエーを除き、沈澱カードを得た。沈澱カードは加水（4 倍重量）し、苛性ソーダで中和した。各々の中和した画分を 140℃ 15 秒間殺菌し、これを噴霧乾燥して、7S グロブリンおよび 11S グロブリンに富んだ 2 種類の分画大豆蛋白を得た。

上記分離後の可溶性画分と不溶性画分の 7S グロブリンと 11S グロブリンの存在比を実施例 1 の方法で算出し、表 8 に示した。

表 8

	可溶性画分	不溶性画分
7S : 11S	96 : 4	10 : 90

この結果より、分画に用いる大豆蛋白溶液として、酸沈カード（分離大豆蛋白）を使用しても酸性下での加熱処理により、7S グロブリンに富んだ可溶性画分と 11S グロブリンに富んだ不溶性画分を精度良く分離できることがわかった。

実施例 7

実施例 1 と同様に抽出した脱脂豆乳を、塩酸にて pH6.2 に調整した後、40℃ になるように加温を行った。この溶液（フィチン酸含量 2.20 % / 蛋白重量 : Alii Mohamed の方法（Cereal Chemistry 63,475-478.1986）に準拠して測定）に蛋白重量あたり 8unit 相当（1unit のフィターゼ活性は、pH5.5、37℃ の下で、反応初期の 1 分間に基質のフィチン酸から 1 μ mol のリン酸を遊離する酵素量）

のフィターゼ（ノボ社製「PHYTASE NOVO L」）を加え、30 分間酵素反応を行った。反応後（フィチン酸含量 0.05% / 蛋白重量）、塩酸にて pH4.8 に調整し、50℃になるように加温を行った。pH 調整したフィターゼ反応後の溶液が 50℃に達した後、直ちに 30℃付近まで冷却し、苛性ソーダで pH6.2 に調整してバッチ式遠心分離機（3,000G）で遠心分離した。このとき可溶性画分と不溶性画分は明確な分離をした。

なお、この遠心分離時の溶液温度は 25℃付近であった。得られた不溶性画分は加水（2 倍重量）し、苛性ソーダで中和した。一方、可溶性画分は、塩酸にて pH4.9 に調整した後、遠心分離してホエー画分を除き、沈澱カードを得た。沈澱カードは加水（4 倍重量）し、苛性ソーダで中和した。各々の中和した画分を 140℃ 15 秒殺菌し、噴霧乾燥して、7S グロブリンおよび 11S グロブリンに富んだ 2 種類の分画大豆蛋白を得た。

実施例 1 の方法に基づいて算出した上記分離後の可溶性画分と不溶性画分の 7S グロブリンと 11S グロブリンの存在比、および試料乾燥重量当りのフィチン酸含量を、表 9 に示した。

表 9

20	可溶性画分		不溶性画分	
	7S : 11S	95 : 5	8 : 92	
	フィチン酸	0.05%	0.05%	

25 この結果より、フィターゼによりフィチン酸を分解した大豆蛋白溶液を使用しても、酸性下での加熱処理により、7S グロブリンに富

んだ可溶性画分と、11S グロブリンに富んだ不溶性画分を精度良く分離できることがわかった。

実施例 8

実施例 1 と同様に抽出した脱脂豆乳を A、B 2 区に分けた。A 区
5 は塩酸にて pH4.8 に調整した後、50℃になるように加温を行った。
pH 調整した脱脂豆乳が 50℃に達した後、直ちに 45℃付近まで冷却
し、苛性ソーダで pH5.8 に調整してバッチ式遠心分離機 (3,000G)
で遠心分離した。この時可溶性画分と不溶性画分は明確に分離した。
なお、遠心分離時の溶液温度は 40℃付近であった。得られた可溶性
10 画分を 40℃になるように加温した後、これらを A-1、A-2 の 2
区に分け、A-1 には蛋白重量あたり 8unit 相当のフィターゼ (ノ
ボ社製「PHYTASE NOVO L」) を加え、30 分間酵素反応を行った。
反応後、A-1、A-2 両区とも塩酸にて pH4.9 に調整し、遠心分
離 (3, 0 0 0 G, 5 分間) してホエー画分を除き、沈澱カードを
15 得た。沈澱カードは加水 (4 倍重量) し、苛性ソーダで pH 7. 0
に中和した。各々の中和した画分を 140℃ 15 秒間殺菌し、これを
噴霧乾燥して、フィターゼ処理した精製 7S グロブリン画分と、フ
ィターゼ処理していない精製 7S グロブリン画分を得た (A-1、
A-2)。

20 一方、B 区は pH 6. 4 に調整して、4℃にて一晩放置して、遠心
分離 (5, 0 0 0 G, 4℃で 1 0 分間) して得られた上澄液を、p H
4. 5 に調整し、遠心分離 (3, 0 0 0 G, 5 分間) して得られた
沈澱物を回収して冷沈法 7S グロブリンとした。

この冷沈法 7S グロブリン沈澱物に 4 倍量の水を加え、pH 6. 0
25 に調整後 B-1、B-2 の 2 区に分けた。B-1 には蛋白重量あた
り 8unit 相当のフィターゼ (ノボ社製「PHYTASE NOVO L」) を

加え、30 分間酵素反応を行った。反応後 B-1、B-2 両区とも塩酸にて pH 4.9 に調整し、遠心分離(3,000 G, 5 分間)してホエー画分を除き沈澱カードを得た。沈澱カードは加水後、苛性ソーダで pH 7.0 に中和して殺菌し、噴霧乾燥してフィターゼ処理した冷沈 7S グロブリン画分と、フィターゼ処理していない冷沈 7S グロブリン画分を得た (B-1、B-2)。

各試料の組成を表 10 に示した。

表 10

	精製 7S グロブリン		冷沈法 7S グロブリン	
	A-1	A-2	B-1	B-2
水分	4.8%	4.7%	4.7%	4.9%
粗蛋白質	98.1%	98.0%	97.2%	97.2%
純度(SPE 基準)	97.1%	97.1%	78.2%	78.3%
クロメタ油分	0.7%	0.7%	2.8%	2.8%
フィチン酸	0.06%	1.9%	0.07%	2.0%
補正純度	90.3%	90.3%	56.3%	56.3%

但し、粗蛋白質は、粗蛋白質(／乾物)である。

以上の結果より、脂質会合蛋白質の存在はフィターゼ処理の有無には左右されないことがわかった。また、冷沈法で得られる 7S グロブリンは SDS-ポリアクリルアミド電気泳動法に基づく純度(SPE 基準)では 80% 近い値を示すものの、脂質会合蛋白質を考慮した補正純度では、約 60% 程度しかないことがわかり、本発明による 7S グロブリンの純度の高さが示された。

実施例 9

実施例 6 と同様に調製した酸沈カードに水を加えて十分に分散させた後、苛性ソーダで pH5.0 に調整し、40℃ になるように加温を行った。

- 5 この酸沈カード分散液に、蛋白重量あたり 8unit 相当のフィターゼ（ノボ社製「PYTASE NOVO L」）を加え、30 分間酵素反応を行った。反応後、直ちに 30℃ 付近まで冷却し、苛性ソーダで pH6.0 に調整してバッチ式遠心分離機（3,000G）で遠心分離した。このとき可溶性画分と不溶性画分は明確な分離をした。なお、この遠心分離時の溶液温度は 25℃ 付近であった。得られた不溶性画分は加水（2 倍重量）し、苛性ソーダで中和した。一方、可溶性画分は塩酸にて pH4.9 に調整した後、遠心分離してホエー画分を除き、沈澱カードを得た。沈澱カードは加水（4 倍重量）し、苛性ソーダで中和した。各々の中和した画分を 140℃ 15 秒間殺菌し、これを粉霧乾燥して、フィターゼ処理した 7S グロブリンおよび 11S グロブリンに富んだ 2 種類の分画大豆蛋白を得た。

上記分離後の実施例 1 の方法に基づいて算出した可溶性画分と不溶性画分の 7S グロブリンと 11S グロブリンの存在比、および乾燥重量あたりのフィチン酸含量を表 1 1 に示した。

20 表 1 1

	可溶性画分	不溶性画分
7S : 11S	9 4 : 6	7 : 9 3
25 フィチン酸	0.06%	0.07%

実施例 10

実施例 1 と同様に脱脂した低変性脱脂大豆 1 重量部に、10 重量部の 40℃の抽出水を加え、塩酸にて pH5.3 に調整した。この溶液に蛋白重量あたり 8unit 相当のフィターゼ（ノボ社製「PYTASE NOVO L」）を加え、40℃にて蛋白の抽出と酵素反応を併せた 30 分間の処理を行い、酵素処理した抽出スラリーを得た。この酵素処理抽出スラリーを 25℃付近まで冷却し、塩酸にて pH6.1 に調整し、バッチ式遠心分離機（3,000G）で遠心分離した。このとき可溶性画分と不溶性画分は明確な分離をした。なお、この遠心分離時の溶液温度は 25℃付近であった。得られた不溶性画分は加水（脱脂大豆の 7 倍量）し、苛性ソーダで pH7.2 に調整して、30 分間抽出を行った後、遠心分離して不溶性画分を除いて 11S グロブリンに富んだ上清を得た。また、上清の一部は、高 G の遠心分離（5 0 0 0 G * 1 0 分）によりデファインをおこない、より清澄な上清を得た。得られた 11S グロブリンに富んだ上清は、塩酸にて pH5.0 に調整し、遠心分離して沈澱カードを得た。沈澱カードは加水（4 倍重量）し、苛性ソーダで中和後、140℃15 秒間殺菌し、これを噴霧乾燥してフィターゼ処理した 11S グロブリンに富んだ分画大豆蛋白を得た。

一方、可溶性画分は、塩酸にて pH4.9 に調整後、遠心分離して沈澱カード得た。沈澱カードは 1 0 倍量の水で水洗後、加水（4 倍重量）し、苛性ソーダで中和して、140℃15 秒間殺菌を行ったのち直ちに噴霧乾燥してフィターゼ処理した 7S グロブリンに富んだ分画大豆蛋白を得た。

実施例 1 の方法に基づいて算出した上記分離後の可溶性画分と不溶性画分の 7S グロブリンと 11S グロブリンの存在比、およびフィチン酸含量を表 1 2 に示した。

表 1 2

		可溶性画分	不溶性画分
5	7S : 11S	9 4 : 6	7 : 9 3
	フィチン酸	0.06%	0.09%

また、7S グロブリンに富む蛋白（表中 7S）および 11S グロブリンに富む蛋白（表中 11S）並びに比較のために市販分離蛋白（「フジプロ
10ーF」、表中 SPI）の粉体組成を表 1 3 に示した。

表 1 3

	水分 (%)	粗蛋白 (%)	7S/11S (比)	フィチン酸 (%)	クロメタ油分 (%)
15					
7S	4. 3	9 8. 2	9 5 / 5	0. 0 6	0. 7
11S	5. 5	9 4. 3	4 / 9 6	0. 0 9	2. 8
	(デファインなし)				
11S	4. 8	9 8. 2	4 / 9 6	0. 0 9	1. 8
20	(デファインあり)				
SPI	5. 5	9 0. 2	3 0 / 7 0	1. 8	3. 5

但し、粗蛋白は、粗蛋白（／乾物）である。

さらに、得られた 7S グロブリンに富む蛋白のアミノ酸組成を測
25 定したところ、メチオニン＋システインの含硫アミノ酸の値は 1 2
mg/g 蛋白質を示した。本来 7S グロブリンの完全な精製品の含硫ア

ミノ酸含量は 5 mg/g であるのに対し、精製度の低い 7S グロブリン含有蛋白には、トリプシンインヒビターのように含硫アミノ酸を多量に含む蛋白質画分が混在するため、含硫アミノ酸含量は 15 mg/g 以上を示すことが多いのに比べて、本品の含硫アミノ酸含量の値は
5 低いので、この点からも本品の 7S グロブリンは高純度であることが示された。

実施例 11

実施例 1 と同様に脱脂した低変性脱脂大豆 1 重量部に、10 重量部の 40℃の抽出水を加え、塩酸にて pH6.1 に調整した。この溶液に蛋白重量あたり 8unit 相当のフィターゼ（ノボ社製「PYTASE NOVO L」）を加え、40℃にて蛋白の抽出と酵素反応を併せた 30 分間の処理を行い、酵素処理した抽出スラリーを得た。この酵素処理抽出スラリーを 25℃付近まで冷却し、苛性ソーダにて pH6.1 に調整し、バッチ式遠心分離機（3,000G）で遠心分離した。このとき可溶性画分と不溶性画分は明確な分離をした。なお、この遠心分離時の溶液温度は 25℃付近であった。得られた不溶性画分は加水（脱脂大豆の 7 倍量）し、苛性ソーダで pH7.2 に調整して、30 分間抽出を行った後、遠心分離して不溶性画分を除いて 11S グロブリンに富んだ上清を得た。得られた 11S グロブリンに富んだ上清は、塩酸にて pH5.0 に調整し、遠心分離して沈澱カードを得た。沈澱カードは加水（4 倍重量）し、苛性ソーダで中和後、140℃15 秒間殺菌し、これを噴霧乾燥してフィターゼ処理した 11S グロブリンに富んだ分画大豆蛋白を得た。一方、可溶性画分は、塩酸にて pH4.9 に調整した後、遠心分離して沈澱カードを得た。沈澱カードは加水（4 倍重量）し、苛性ソーダで中和後、140℃15 秒間殺菌し、これを噴霧乾燥してフィターゼ処理した 7S グロブリンに富んだ分画大豆蛋白を得た。

実施例 1 の方法に基づいて算出した上記分離後の可溶性画分と不溶性画分の 7S グロブリンと 11S グロブリンの存在比、および試料固形分中フィチン酸含量を表 1 4 に示した。

表 1 4

	可溶性画分	不溶性画分
7S : 11S	8 9 : 1 1	7 : 9 3
フィチン酸	0.09%	0.12%

実施例 12

実施例 1 と同様に調製した脱脂豆乳を、塩酸にて pH5.0 に調整した後、40℃になるように加温を行った。この脱脂豆乳をそのまま、および蛋白重量あたり 8unit 相当のフィターゼ（ノボ社製「PYTASE NOVO L」）を加え、40℃に 30 分間保持した。その後、30℃付近まで冷却し、苛性ソーダにて、フィターゼを加えていない溶液は pH5.8、フィターゼを加えた溶液は pH6.0 にそれぞれ調整した。各溶液 1 0 0 g をバッチ式遠心分離機（3 0 0 0 G）で遠心分離した。このとき可溶性画分と不溶性画分は明確な分離をした。なお、この遠心分離時の溶液温度は 25℃付近であった。表 1 5 に、上記の方法で遠心分離された不溶性画分の沈澱量を示す。

表 1 5

	フィターゼ処理なし	フィターゼ処理あり
沈澱重量 (g)	1 2 . 2	1 0 . 6

固形分 (%)	27.0	31.1
回収固形分 (g)	3.3	3.3

実施例 13

5 実施例 6 と同様に調製した酸沈カードに水を加えて十分に分散させた後、苛性ソーダで pH5.0 に調整し、40℃になるように加温を行った。この酸沈カード分散液をそのまま、および蛋白重量あたり 8unit 相当のフィターゼ（ノボ社製「PYTASE NOVO L」）を加え、40℃に 30 分間保持した。その後、30℃付近まで冷却し、苛性ソーダにて、フィターゼを加えていない溶液は pH5.8、フィターゼを加えた溶液は pH6.0 にそれぞれ調整した。各カードスラリーを 5%濃度

10 に調整し、バッチ式遠心分離機（3000G）で遠心分離した。このとき可溶性画分と不溶性画分は明確な分離をした。なお、この遠心分離時の溶液温度は 25℃付近であった。

15 表 16 は、上記の方法で遠心分離された不溶性画分の沈澱量を示す。

表 16

	フィターゼ処理なし	フィターゼ処理あり
20 沈澱重量 (g)	15.5	13.5
固形分 (%)	26.5	30.4
回収固形分 (g)	4.1	4.1

25 実施例 12 および実施例 13 の結果より、フィターゼによるフィチン酸の分解を行うことで、7S グロブリンを含んだ可溶性画分と

11S グロブリンを含んだ不溶性画分を分離する際、不溶性画分の脱水率が高く、分離がより一層容易になることが示された。

比較例 1

実施例 1 と同様に抽出した脱脂豆乳を、沸騰浴中にて 10 分間ボイルした。水冷した後塩酸にて pH4.8 に調整後、50℃になるように加温した。pH 調整した脱脂豆乳が 50℃に達した後、直ちに 30℃付近まで冷却し、pH5.8 に調整してバッチ式遠心分離機 (3,000G) で遠心分離したが、不溶性画分および可溶性画分を明確に分離できなかった。そこで、バッチ式高速遠心分離機を用い 8,000G で遠心分離を行い、不溶性画分と可溶性画分を得た。しかしながら、得られた可溶性画分の蛋白回収率は 30.3% と低下しており、その組成を SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動で確認したところ、7S グロブリンが殆ど含まれていなかった。

これらの結果より、明らかに微酸性下での加熱処理前の加熱が分画に悪影響を及ぼすことがわかった。

(分画大豆蛋白の溶解特性)

実施例 6 で得られたフィチン酸を分解していない 7S グロブリンと 11S グロブリン、実施例 9 で得られたフィチン酸を分解した 7S グロブリンと 11S グロブリンの 4 種の分画大豆蛋白の溶解特性を相対的に比較した。

溶解特性は、塩酸を用いて pH 調整した 1% の分画大豆たんぱく溶液中の全蛋白量に対する 9,000G で遠心分離した可溶性画分に含まれる蛋白量の割合として求めた。なお、1% 溶液の調製、pH の調整および遠心分離は 25℃で行った。

第 2 図に 7S グロブリン、第 3 図に 11S グロブリンの溶解特性を示す。

これらの結果よりフィチン酸を分解することにより、7S グロブリンは pH 4 以下の溶解性が大きく向上し、11S グロブリンは pH6.5 以上の溶解性が低下していることが示された。

5 産業上の利用可能性

以上説明したとおり、本願発明は大豆蛋白を含む溶液を微酸性下で加温した後、pH5.6 ~6.6 において可溶性画分と不溶性画分に効率よく、且つ工業的に分画することができる。

請求の範囲

(1) 大豆蛋白を含む溶液を微酸性下で加温した後、pH5.6～6.6において可溶性画分と、不溶性画分に分画することを特徴とする分画大豆蛋白の製造法。

5 (2) 微酸性が pH3.8～6.8 である請求項 1 記載の製造法。

(3) 加温温度が 30～75℃である請求項 1 記載の製造法。

(4) 製造工程中、フィターゼによるフィチン酸分解をする請求項 1 記載の製造法。

10 (5) 可溶性画分の 7S グロブリン / (11S グロブリン + 7S グロブリン) の比が 0.4 以上である請求項 1 記載の製造法。

(6) 可溶性画分の固形分中、クロロホルム : メタノール = 2 : 1 で抽出される極性脂質が 1 % 以下である請求項 1 記載の製造法。

(7) 可溶性画分の固形分中、フィチン酸含量が 1.2 % 以下である請求項 4 記載の製造法。

15 (8) 不溶性画分の 11S グロブリン / (11S グロブリン + 7S グロブリン) の比が 0.7 以上である請求項 1 記載の製造法。

(9) 不溶性画分の固形分中、フィチン酸含量が 1.2 % 以下である請求項 4 記載の製造法。

20 (10) 不溶性画分の 11S グロブリンを略中性の水溶液中で抽出し、これを遠心分離して抽出画分を採取する請求項 1 記載の製造法。

(11) 抽出画分の固形分中、クロロホルム / メタノール = 2 : 1 で抽出される極性脂質が 2 % 以下である請求項 9 記載の製造法。

(12) 抽出画分の固形分中、フィチン酸含量が 1.2 % 以下である請求項 4 記載の製造法。

25 (13) 7S グロブリン / (11S グロブリン + 7S グロブリン) の比が 0.4 以上であり、固形分中、クロロホルム / メタノール = 2 :

1で抽出される極性脂質が1%以下である高純度 7S グロブリン蛋白。

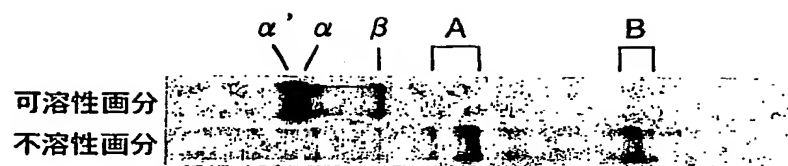
(14) 固形分中、フィチン酸含量が1.2%以下である請求項1記載の高純度 7S グロブリン蛋白。

- 5 (15) 11S グロブリン / (11S グロブリン + 7S グロブリン) の比が0.7以上であり、固形分中、クロロホルム / メタノール = 2 : 1で抽出される極性脂質が2%以下である高純度 11S グロブリン蛋白。

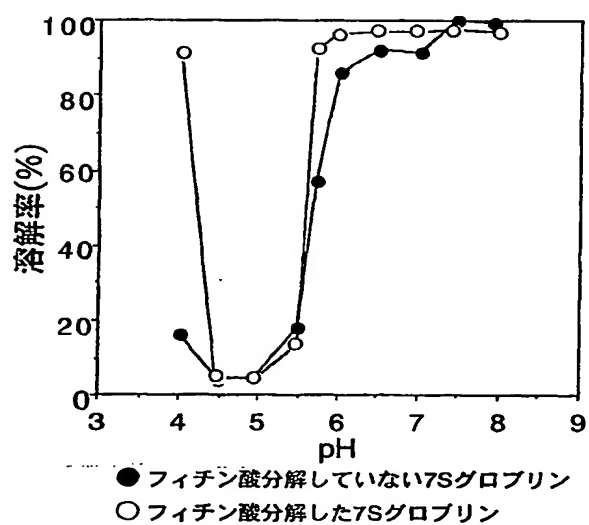
- 10 (16) 固形分中、フィチン酸含量が1.2%以下である請求項15記載の高純度 11S グロブリン蛋白。

1/2

第1図



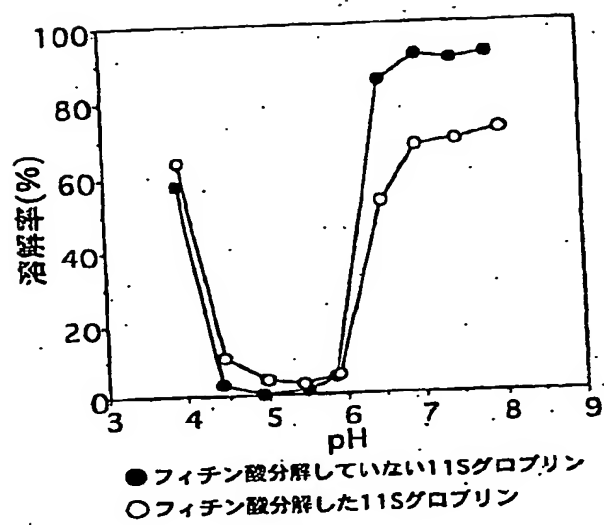
第2図



差替え用紙 (規則26)

2 / 2

第3図



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/08534

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
Int. Cl.⁷ A23J3/16

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int. Cl.⁷ A23J3/16

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2000-191694 A (Fuji Oil Company, Limited), 11 July, 2000 (11.07.00) (Family: none)	15
X	JP 11-308969 A (Fuji Oil Company, Limited), 09 November, 1999 (09.11.99) (Family: none)	13
A	JP 7-203862 A (Ajinomoto Co., Inc.), 08 August, 1995 (08.08.95) (Family: none)	1-16
A	US 4943441 A (Soc. Prod. Nestle SA), 24 July, 1990 (24.07.90), & JP 2-276548 A & EP 385266 A1	1-16

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.


* Special categories of cited documents:	"I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search
10 December, 2001 (10.12.01)Date of mailing of the international search report
18 December, 2001 (18.12.01)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int. Cl ¹ A 23 J 3 / 16		
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int. Cl ¹ A 23 J 3 / 16		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの		
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	JP 2000-191694 A (不二製油株式会社) 11.07月.2000 (11.07.00) ファミリーなし	1 5
X	JP 11-308969 A (不二製油株式会社) 09.11月.1999 (09.11.99) ファミリーなし	1 3
A	JP 7-203862 A (味の素株式会社) 08.08月.1995 (08.08.95) ファミリーなし	1 - 1 6
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日 10.12.01	国際調査報告の発送日 18.12.01	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 鈴木 恵理子	 4N 8114 電話番号 03-3581-1101 内線 3448

C (続き) 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	US. 4943441 A (SOC PROD NESTLE SA) 24. 07月. 1990 (24. 07. 90) & JP 2-276548 A & EP 385266 A1	1 - 16